

BEST AVAILABLE COPY

PCT/JP2004/002973

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

08. 3. 2004

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

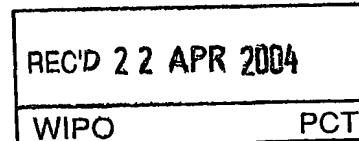
This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日
Date of Application: 2003年 3月10日

出願番号
Application Number: 特願2003-063753

[ST. 10/C]: [JP2003-063753]

出願人
Applicant(s): 武田 元博
大内 憲明
川添 良幸
柏谷 厚生
佐竹 正延
東レ・ダウコーニング・シリコーン株式会社

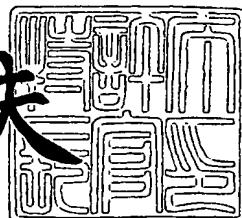


PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2004年 4月 8日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今井康夫



【書類名】 特許願
【整理番号】 J97370A1
【提出日】 平成15年 3月10日
【あて先】 特許庁長官 殿
【国際特許分類】 A61K 9/00
【発明の名称】 センチネルリンパ節検出剤及び検出方法
【請求項の数】 5

【発明者】

【住所又は居所】 宮城県仙台市泉区桂三丁目 15-2
【氏名】 武田 元博

【発明者】

【住所又は居所】 宮城県仙台市青葉区柏木二丁目 3-17-302
【氏名】 大内 憲明

【発明者】

【住所又は居所】 宮城県仙台市青葉区南吉成二丁目 19-24
【氏名】 川添 良幸

【発明者】

【住所又は居所】 宮城県仙台市泉区加茂1丁目 13番5号
【氏名】 細谷 厚生

【特許出願人】

【住所又は居所】 宮城県仙台市泉区桂三丁目 15-2
【氏名又は名称】 武田 元博

【特許出願人】

【識別番号】 503009498
【氏名又は名称】 大内 憲明

【特許出願人】

【識別番号】 503008963
【氏名又は名称】 川添 良幸

【特許出願人】**【識別番号】** 596106179**【氏名又は名称】** 粕谷 厚生**【特許出願人】****【識別番号】** 503009410**【氏名又は名称】** 佐竹 正延**【特許出願人】****【識別番号】** 000110077**【氏名又は名称】** 東レ・ダウコーニング・シリコーン株式会社**【代理人】****【識別番号】** 100064908**【弁理士】****【氏名又は名称】** 志賀 正武**【選任した代理人】****【識別番号】** 100089037**【弁理士】****【氏名又は名称】** 渡邊 隆**【選任した代理人】****【識別番号】** 100110364**【弁理士】****【氏名又は名称】** 実広 信哉**【手数料の表示】****【予納台帳番号】** 008707**【納付金額】** 21,000円**【提出物件の目録】****【物件名】** 明細書 1**【物件名】** 図面 1**【物件名】** 要約書 1**【プルーフの要否】** 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 センチネルリンパ節検出剤及び検出方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 200 nm以上1000 nm以下の粒径の蛍光粒子からなるヒト用センチネルリンパ節検出剤。

【請求項 2】 40 nm以上200 nm未満の粒径の蛍光粒子からなる小型哺乳動物（ヒトを除く）用センチネルリンパ節検出剤。

【請求項 3】 前記蛍光粒子が、600～900 nmの波長の蛍光を放射することを特徴とする、請求項 1 又は 2 記載のセンチネルリンパ節検出剤。

【請求項 4】 前記蛍光粒子表面の少なくとも一部がオルガノポリシロキサンからなることを特徴とする、請求項 1 乃至 3 のいずれかに記載のセンチネルリンパ節検出剤。

【請求項 5】 40 nm以上200 nm未満の粒径の蛍光粒子を小型哺乳動物（ヒトを除く）の生体内に注入する工程；

前記小型哺乳動物の前記注入箇所付近に励起エネルギーを照射する工程；及び前記蛍光粒子から放射される蛍光を検出する工程を含むことを特徴とする小型哺乳動物（ヒトを除く）センチネルリンパ節検出方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、センチネルリンパ節検出剤及び当該検出剤を用いたセンチネルリンパ節検出方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

近年、腫瘍の早期発見率の向上に伴い、早期癌の切除手術が増加している。一般に、腫瘍細胞はリンパ管に侵入し、リンパ液の流れに乗ってリンパ節に転移し、更に他臓器に転移する傾向があるので、早期癌の手術においても、腫瘍細胞の転移を回避するために、腫瘍部分だけでなく当該腫瘍部分の周囲のリンパ節をも

切除することが多い。そして、切除したリンパ節の病理検査によって、リンパ節への腫瘍細胞の転移の有無を判定し、手術の成否及び治療方針の策定等が行われている。

【0003】

過去においては、リンパ節への腫瘍細胞の転移の有無を確認する手段がなかつたため、どの程度のリンパ節を切除する必要があるかの判定が困難であった。そこで、腫瘍の転移のリスクを最小限とするために、腫瘍細胞周囲の多くのリンパ節が切除されていた。多数のリンパ節の切除は患者にとっての負担が大きいものであった。

【0004】

しかし、最近になって、早期乳癌等の腫瘍の場合にはリンパ節への転移が少ないことが明らかとなった。そこで、現在では、センチネルリンパ節生検という新しい術式を採用することによってリンパ節の切除を最小限とする試みがなされている。例えば、乳癌の場合は、センチネルリンパ節生検の結果によれば、腫瘍細胞が最も転移しやすいと考えられている脇の下の腋窩リンパ節の切除等を省略することが提案されている。

【0005】

以下、センチネルリンパ節生検について説明する。センチネルリンパ節生検とは、例えば、癌の原発腫瘍からリンパ管に入った腫瘍細胞等が、生体のリンパ系に侵入した物体が最初に到達するリンパ節である、センチネルリンパ節に転移があるか否かを検出する検査法である。

【0006】

生体のリンパ系に侵入した物体が腫瘍細胞である場合を例に挙げてより具体的に説明する。腫瘍細胞がリンパ節に転移する場合はランダムに転移するのではなく、一定のパターンに従うことが最近明らかとなっている。具体的には、原発腫瘍からリンパ管への腫瘍細胞の侵入後に、当該リンパ管への侵入位置から最も近いリンパ節（センチネルリンパ節）への転移が発生し、更に、当該リンパ節に最も近い他のリンパ節への転移が発生する。そして、この転移が繰り返されるのである。したがって、腫瘍細胞がリンパ節に転移している場合には、必ず、センチ

ネルリンパ節に転移があると考えられる。なお、「センチネル」とは「歩哨」、「前哨」又は「見張り」の意味である。

【0007】

したがって、例えば、早期癌の切除手術中にセンチネルリンパ節生検を行うことによってセンチネルリンパ節を発見・摘出し、これを直ちに病理検査することによって、リンパ節への腫瘍細胞の転移の有無を判定することができる。そして、センチネルリンパ節への腫瘍細胞の転移がなければ、追加のリンパ節の切除を回避することができる。例えば、乳癌の場合は腋窩リンパ節郭清（切除）を省略することができる。一方、センチネルリンパ節への腫瘍細胞の転移が確認される場合は、転移状況に応じて、センチネルリンパ節が含まれる生体領域、及び、さらにリンパ液流からみてセンチネルリンパ節の下流側の複数のリンパ節が含まれる生体領域が切除される。

【0008】

このように、センチネルリンパ節生検によって、リンパ節に腫瘍細胞が転移していない患者は無用なリンパ節切除を回避できるので手術的身体的負担が軽減される。この手法は、乳癌に限らず、他の臓器腫瘍の切除手術においても適用可能なものである。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】

ところで、センチネルリンパ節生検は腫瘍摘出手術等の他の手術中に実施されるので、全手術時間の制限のために、センチネルリンパ節生検ではセンチネルリンパ節を容易且つ迅速に特定する必要がある。そこで、現在、大きく分けて2種類の検出方法がセンチネルリンパ節の特定に使用されている。

【0010】

最初の検出方法は、手術時に、イソスルファンブルー等の色素を腫瘍の周囲に局所注入する方法（いわゆる「色素法」）である。注入は経皮的な注射、内視鏡等を用いて行うことができる。注入された色素は注入部位からリンパ管に侵入し、数分乃至十数分でセンチネルリンパ節に到達する。したがって、最初に染色されたリンパ節を視認することによって、センチネルリンパ節を同定することができ

きる。

【0011】

しかし、リンパ節は脂肪等の生体組織に覆われていることが多く、生体組織の剥離を行なながらセンチネルリンパ節を検索することがある。この場合、検索に時間を要すると、その間に色素がセンチネルリンパ節より下流のリンパ節に到達してしまい、センチネルリンパ節の検出が困難となるおそれがある。また、この方法では、体外からセンチネルリンパ節を同定することはできない。さらに、色素の種類によっては、稀であるが、患者にアレルギー反応が起こることもある。

【0012】

第2の検出方法は、手術前に、テクネシウム等の寿命の短いラジオアイソotope（放射性同位元素：R I）を腫瘍周囲に少量局所注入する方法（いわゆる「アイソotope法」）である。最初の方法と同様に、注入は経皮的な注射、内視鏡等を用いて行なうことができる。注入されたラジオアイソotopeは注入部位からリンパ管に侵入し、一定時間センチネルリンパ節に留まる。したがって、手術中に、ガンマプローブを用いてガンマ線量を測定することにより、放射ガンマ線量の最も多いリンパ節をセンチネルリンパ節として同定することができる。

【0013】

この方法では、ラジオアイソotopeが短時間でセンチネルリンパ節を通過することはなく、また、生体組織に覆われたセンチネルリンパ節を検出することも可能なので、センチネルリンパ節検出の精度が高い。しかしながら、高価なラジオアイソotope及びガンマプローブを使用するために手術システムが複雑となり、R Iを取り扱うことのできる大規模な病院以外での実施が困難である。また、ガンマプローブによる検出では、放射線の放射状態を画像化できないために、手探りの状態でリンパ節を検査する必要があり手間を要する。

【0014】

本発明は、上記の従来技術の問題を解決することをその課題とする。具体的には、体外からのセンチネルリンパ節の同定が可能で、且つ、上記色素法及びアイソotope法に比較してセンチネルリンパ節をより容易且つ迅速に特定することの可能な検出剤及び当該検出剤を用いたセンチネルリンパ節の検出方法を提供する

ことを目的とするものである。

【0015】

【課題を解決するための手段】

本発明の目的は、所定の粒径を有する蛍光粒子を用いてセンチネルリンパ節生検を行うことによって達成される。

【0016】

例えば、ヒトの場合は、200nm以上1000nm以下の粒径の蛍光粒子をセンチネルリンパ節検出剤として使用し、ヒト以外の小型哺乳動物の場合は40nm以上200nm未満の粒径の蛍光粒子をセンチネルリンパ節検出剤として使用する。

【0017】

前記蛍光粒子は、励起エネルギーの照射後に、600～900nmの波長の蛍光を放射する粒子であることが好ましい。なお、前記蛍光粒子の表面の少なくとも一部或いは全部がオルガノポリシロキサンから構成されてもよい。

【0018】

具体的には、本発明のセンチネルリンパ節検出方法は、
蛍光粒子を生体内に注入する工程；

前記注入箇所付近、特にリンパ節存在部分、に励起エネルギーを照射する工程；及び

前記蛍光粒子から放射される蛍光を検出する工程
を含むことを特徴とする。小型哺乳動物（ヒトを除く）の場合は40nm以上200nm以下の粒径の蛍光粒子を、そして、ヒトの場合は200nm以上1000nm以下の粒径の蛍光粒子を使用することが好ましい。

【0019】

【発明の実施の形態】

本発明のセンチネルリンパ節検出では、所定範囲内の粒径を有し、且つ、励起後に蛍光を発する粒子を、ヒト又は小型哺乳動物（ヒトを除く）の生体内リンパ液流に導入し、当該粒子が最初に到達するリンパ節をセンチネルリンパ節として同定することを大きな特徴としている。なお、本発明において小型哺乳動物とは

ヒト以下のサイズを有する哺乳動物を指し、例えば、ラット、犬、猫、猿、豚、ヤギ、兔、羊等を挙げることができる。

【0020】

ヒト及び小型哺乳動物（ヒトを除く）体内のリンパ系は、動物種に応じて固有の物質運搬及びフィルター機能を備えたリンパ管及びリンパ節を有しており、ヒトの場合は約200nm以上、ヒト以外の小型哺乳動物（例えばラット）の場合は約40nm以上の粒径を有する物体はリンパ節をそのまま短時間に通過することができない。したがって、生体内のリンパ液流によってあるリンパ節に到達したもの、そこを通過できない巨大粒子は当該リンパ節に貯留することになる。

【0021】

したがって、例えばヒトの場合は、ヒト体内の腫瘍周囲に200nm以上の粒径を有する粒子を注入し、そのリンパ液流による移動を追跡し、当該粒子の貯留しているリンパ節を検出すれば、当該リンパ節をセンチネルリンパ節として同定することができる。ヒト以外の小型哺乳動物の場合は、粒子の粒径を減少させ、40nm以上とすることによって、同様に、センチネルリンパ節の検出を行うことができる。200nm未満（ヒト）或いは40nm未満（ヒト以外の小型哺乳動物）のサイズの粒子を使用すると、当該粒子は生体内のリンパ節に貯留せずに、短時間でリンパ液の下流側に流出するので手術時間中十分にセンチネルリンパ節を検出することができない（なお、この場合であっても、リンパ管の造影については可能である）。

【0022】

ただし、生体のリンパ系に導入される粒子の粒径が過大であると、リンパ管内の粒子の移動に時間を要し、手術時間中にセンチネルリンパ節の検出を行うことが困難となるので、センチネルリンパ節検出剤としての粒子の粒径には自ずと上限が存在する。この上限値は、ヒトの場合は約1000nm以下であり、ヒト以外の小型哺乳動物では約200nm未満である。

【0023】

したがって、本発明のセンチネルリンパ節検出剤粒子の粒子径は、小型哺乳動物（ヒトを除く）の場合は約40nm以上約200nm未満であり、ヒトの場合

は約200nm以上約1000nm以下である。ヒトの場合、上記粒子径は、好みしくは300nm以上800nm以下、より好みしくは400nm以上700nm以下、特に好みしくは500nm以上600nm以下である。一方、ヒト以外の小型哺乳動物では、上記粒子径は、好みしくは40nm以上150nm以下、より好みしくは40nm以上100nm以下、特に好みしくは40nm以上80nm以下である。なお、本発明において「粒子」とは完全な球体以外に、橢円球等の不完全な球体形状を有する物体をも含む。完全な球体以外の粒子の場合、粒径とは、当該粒子の最長サイズ方向長さを意味する。

【0024】

本発明のセンチネルリンパ節検出用粒子は、全ての粒子が均一の粒径を有していてもよく、或いは、上記の粒径範囲内で所定の粒度分布を有していてもよい。ただし、前記粒子のセンチネルリンパ節到達時間は粒径に依存するので、到達時間の制御のためには、全ての粒子がほぼ均一の粒径を備えることが好みしい。

【0025】

本発明のセンチネルリンパ節検出剤として使用される粒子は、励起エネルギーの照射後に蛍光を発する性質を有する蛍光粒子である。励起エネルギーの種類としては特に制限はなく、熱、磁場、光等を挙げることができるが、特に光が好みしく、特に、蛍光波長より短波長のレーザー光を照射することが好みしい。レーザー光としては、ダイオードレーザー、He-Neレーザー等からのレーザー発振装置からの発振光を使用することができる。

【0026】

本発明のセンチネルリンパ節検出剤としての粒子から発せられる前記蛍光の波長は600～900nmの範囲が好適である。600nmより蛍光波長が短いと生体内に自然に存在する蛍光物質（ポルフィリン等）が発する蛍光（自家蛍光）の波長と重複するので高感度測定が困難となる。一方、900nmより蛍光波長が長いと、利用可能な蛍光粒子の種類が僅かとなり実用上好みしない。なお、好みしい蛍光波長は620～800nmであり、より好みしい蛍光波長は650～700nmであり、特に好みしい蛍光波長は660～680nmである。

【0027】

したがって、センチネルリンパ節検出用蛍光粒子の蛍光波長が600～900 nmの範囲の場合は、励起エネルギー光の波長は600 nm未満が好ましい。同様に、蛍光波長が620～800 nmの範囲の場合は、励起エネルギー光の波長は620 nm未満が好ましく、また、蛍光波長が650～700 nmの範囲の場合は、励起エネルギー光の波長は650 nm未満が好ましく、そして、蛍光波長が660～680 nmの範囲の場合は、励起エネルギー光の波長は660 nm未満が好ましい。一般に、蛍光ピーク波長より20～30 nm短い波長に励起エネルギー光の吸收ピークが存在するが、検出される蛍光と励起エネルギー光との重複を回避して蛍光検出を容易に行うためには、さらに短い波長で蛍光物質の励起を行うことが好ましい。

【0028】

前記蛍光粒子中の蛍光物質は、好ましくは上記の波長範囲の、蛍光を発することが可能な物質を含む限り、無機又は有機系の任意の物質から構成されてもよい。

【0029】

無機系蛍光物質としては、例えば、3～16族の金属元素からなる蛍光物質、特に希土類金属の化合物が挙げられるが、その蛍光強度の強さから3価のユウロピウム、3価のテルビニウム、3価のサマリウム、3価のジスプロシウム、2価のユウロピウム等の化合物が好ましい。これらは単独で用いてもよく、2種以上併用しても良い。なお、無機系蛍光物質は蛍光波長よりかなり短い波長で励起可能であるため励起光と蛍光が重なりにくい特長を有する。そのため励起波長特性の点では無機系蛍光物質が好ましい。

【0030】

有機系蛍光物質としては、例えば、フルオレセイン、アクリフラビン、ローダミン、ヨウ化3,3-ジエチルトリカルボシアニン、クロロアルミニウムフタロシアニン、5-カルボキシフルオレセイン、5-(2'-アミノエチル)アミノナフタレン-1-スルホン酸、アントラニルアミド、クマリン、シアニン染料、BODIPY染料等の各種染料が挙げられる。具体的には、酸性フクシン、アクリジンオレンジ、アクリジンレッド、アクリジンイエロー、アクリフラビン、ア

リザリンレッド、アロフィコシアニン、アミノアクチノマイシンD、7-アミノアクチノマイシンD-AAD、アストラゾン ブリリアント レッド 4G、アストラゾン レッド 6B、アストラゾン オレンジ、アミノクマリン、ステアリン酸アントリル、アタプリン、オーラミン、オーロフォスフィン、オーロフォスフィンG、ベルベリンスルフェート、ビスベンズアミド、CY3.18、CY5.18、CY7、エリスロシンITC、エチディウムプロミド、フラゾオレンジ、FM1-43、ゲナクリル ブリリアント レッドB、ゲナクリル ピンク3G、リサミン ローダミン B200、リソトラッカー イエロー、リソトラッカー レッド、マグダラ レッド、マグネシウム オレンジ、マイスラマイシン、ナイル レッド、ニトロベンゾキサジドール、パラロサニリン、フォスフィン3R、フォスフィンR、ポントクローム ブルー ブラック、プリムリン、プロシオン イエロー、ヨウ化プロピジウム、ピロナインB、R-フィコエリシン、ローダミン5 GLD、ローダミン 6G、ローダミン B、ローダミン B200、ローダミン Bエキストラ、ローズベンガル、セロトニン、セブロンブリリアント レッド2B、スルホローダミン Gエキストラ、チアジン レッドR、チオフラビンS、ウルトラライト、キシレンオレンジ等を挙げることができる。

【0031】

蛍光粒子中の蛍光物質を担持するマトリックスとしては、無機又は有機系の任意の物質を使用することができる。無機系物質としては、シリカ、タルク、炭酸カルシウム、炭酸マグネシウム、酸化アルミニウム、酸化亜鉛、硫酸バリウム、ガラス、カーボンフラーレン等のフラーレン、カーボンナノチューブ等のナノチューブ、ゼオライト等を挙げができる。有機系物質としてはポリエチレン、ポリプロピレン、ポリスチレン、ポリメチルメタクリレート、ポリアクリルアミド、ポリ塩化ビニル、ポリ塩化ビニリデン等のラジカル重合型ポリマー；ポリエステル、ポリアミド、ポリイミド、ポリカーボネート等の重縮合型ポリマー；ポリウレタン等の重付加型ポリマー；シリコーンゴム等のオルガノポリシロキサン等を挙げができる。これらの物質のうち、入手容易性の点では有機系物質が好ましく、また、生体内安定性・安全性の点ではポリスチレン等のラジカル

重合ポリマー及びオルガノポリシロキサンが好ましい。なお、センチネルリンパ節検出後に、生体内にごく僅か残存する可能性のある蛍光粒子を体内で早期に分解して消滅させる場合は、ポリ乳酸等の各種の生分解生存有機ポリマーからマトリックスを構成してもよい。

【0032】

蛍光粒子として利用可能な市販の製品としては、例えば、Molecular Probes社のポリスチレンマトリックス型蛍光ビーズ（蛍光物質：各種染料）の水中2%懸濁液であるFluoroSphere（登録商標）を挙げることができる。

【0033】

本発明のセンチネルリンパ節検出剤としての蛍光粒子の表面は各種の処理を受けていてもよく、例えば、親水化又は疎水化処理、或いは、各種の官能基導入処理が施されていてもよい。親水化処理としては、プラズマ処理、紫外線処理等を挙げることができる。疎水化処理としては、メチルハイドロジエンシロキサン等のオルガノポリシロキサン、パーフルオロアルキルリン酸エステル等による表面処理が挙げられる。なお、粒子表面に導入される官能基としては、これらに限定されるものではないが、カルボキシレート基、スルフェート基、アルデヒドスルフェート基、アミノ基等が挙げられる。

【0034】

本発明で使用される蛍光粒子は、生体適合性、生体安定性の面から、その表面の少なくとも一部がオルガノポリシロキサンから構成されることが好ましい。具体的には、蛍光粒子のマトリックスをシリコーンゴム等のオルガノポリシロキサンとしてもよく、また、蛍光粒子の少なくとも一部の表面をオルガノポリシロキサンにより表面処理してもよい。なお、蛍光粒子の全表面がオルガノポリシロキサンにより被覆されてもよい。

【0035】

本発明のセンチネルリンパ節検出方法は、ヒト或いは小型哺乳動物（ヒトを除く）のいずれを対象とするかによって、蛍光粒子の粒径を上記の異なる数値範囲から選択し、所定の粒径を有する蛍光粒子を生体内に注入し、次に、注入箇所附近に励起エネルギーを照射し、当該蛍光粒子から放射される蛍光を検出すること

によって実施することができる。

【0036】

蛍光粒子の発光は強度が大きいために、皮膚上から肉眼で蛍光を観測可能である。したがって、単に蛍光の存在箇所を確認することにより、容易かつ迅速にセンチネルリンパ節を同定することが可能である。もちろん、皮膚を切開した状態で蛍光粒子の発光を追跡することも可能であり、その場合は、より強い蛍光を直接確認することにより、センチネルリンパ節の同定をより容易に行うことができる。

【0037】

体内に注入される蛍光粒子は粒径が大きい程、センチネルリンパ節への到達時間が長くなるために、手術前の時間が長い場合は、比較的粒径の大きい蛍光粒子を使用することが可能であり、また、短時間でセンチネルリンパ節を同定する必要がある場合は、粒径の比較的小さい蛍光粒子を使用することができる。

【0038】

励起エネルギー照射領域を制限し、或いは、センチネルリンパ節検出領域を限定するために、蛍光粒子の体内注入前に、リンフォシンチグラフィを実施してもよい。リンフォシンチグラフィーにより、事前に、センチネルリンパ節存在領域をある程度予測できるので、当該存在予測領域に励起エネルギー照射を制限することにより、使用エネルギーを節約し、且つ、センチネルリンパ節検出をより迅速且つ確実に行うことが可能となる。

【0039】

本発明のセンチネルリンパ節検出剤を利用した手術、例えば腫瘍摘出手術、は、以下のように行うことができる。

【0040】

患者の腫瘍周囲又は腫瘍直上皮下に、上記の蛍光粒子の所定濃度の懸濁液を所定量注入する。原発腫瘍内に注入すると、それによって腫瘍細胞が周囲の臓器に拡散するおそれがあるので好ましくない。注入手段としては、注射器を好適に使用することができる。必要に応じて、蛍光粒子の注入前にリンフォシンチグラフィを腫瘍の周囲で実施してもよい。

【0041】

適当な時間、例えば10～30分、の経過後、患者のセンチネルリンパ節生検を開始する。まず、患者の腫瘍周囲に蛍光試薬を注入し、腫瘍存在部位またはセンチネルリンパ節の存在が予想される付近の皮膚を切開し、腫瘍付近の生体組織にレーザー等の励起エネルギーを照射し、これと同時に、蛍光部位を走査する。なお、皮膚癌、乳癌等のように腫瘍が比較的皮下近くに存在する場合は、切開の前にレーザー等の励起エネルギーを腫瘍付近の皮膚に照射し、蛍光部位を確認してもよい。

【0042】

蛍光により同定されたセンチネルリンパ節を摘出し、直ちに、組織検査を行う。次に、腫瘍摘出が行われるが、組織検査により腫瘍細胞の転移が陰性と判断された場合は腫瘍及びその周囲組織のみを摘出し、切開部位を縫合し、手術を終了する。一方、組織検査により腫瘍細胞の転移が陽性と判断された場合は、腫瘍と共に、腫瘍周囲のリンパ節の一部又は全部を摘出した上で切開部位を縫合し、手術を終了する。

【0043】

本発明のセンチネルリンパ節検出剤はアイソトープとは異なり放射能を有さず取り扱いが容易なので、センチネルリンパ節生検用の大規模な設備が不要である。したがって、大規模病院以外であってもセンチネルリンパ節生検を利用した腫瘍摘出手術を行うことができる。このように、センチネルリンパ節生検を利用することにより、不要な生体組織（リンパ節など）摘出を回避して、腫瘍摘出手術時の患者の負担を著しく減少させることができる。また、アイソトープ法とは異なり、本発明ではセンチネルリンパ節が蛍光により画像化されるので、長期の経験を積んだ医師でなくとも容易にセンチネルリンパ節を同定することができる。

【0044】

本発明でセンチネルリンパ節検出剤として使用される蛍光粒子は、リンパ管を容易に移動することが可能で、且つ、最初に到達したリンパ節を通過できない程度の所定の粒径を有するので、センチネルリンパ節に確実に滞留する。したがつ

て、単に蛍光を発するリンパ節を目視により特定するだけの簡易な操作によってセンチネルリンパ節を確実に同定することができる。

【0045】

また、短時間内でセンチネルリンパ節を同定する必要がある色素法とは異なり、本発明ではセンチネルリンパ節の同定により多くの時間を利用することができるので、同定作業を容易且つ確実に行うことができる。なお、本発明では、体外からもセンチネルリンパ節同定が可能なので、色素法に比較して、同定操作を著しく簡略化することができる。

【0046】

【実施例】

実施例 1

1匹のラット（Donryu種；雄；7～10週齢）に脱脂綿に染み込ませて気化させたジエチルエーテル6mlの吸入により麻酔を施し、麻酔が完全にかかるから後に下肢部分を剃毛した。

40nmの单一粒径の蛍光粒子を含むMolecular Probe社製Fluosphere Dark Red原液0.05mlを足背に皮下注射した。次に、下肢部分の皮膚を剥離した。

633nmの波長のレーザー光（Spectra-Physics社製He-Ne装置を使用）を下肢部分に照射し、670±10nmのバンドパスフィルターを装備したCCDカメラ（SONY製）で下肢付け根部分を撮像した。レーザー光照射－撮像の操作を皮下注射から17分後及び28分後に行った。結果を図1に示す。皮下注射から17分後に撮像された図1（a）では蛍光粒子が移動中のリンパ管が造影されており、皮下注射から28分後に撮像された図1（b）では蛍光粒子が集積したセンチネルリンパ節が造影されている。

【0047】

比較例 1

実施例1において、蛍光粒子の粒径を200nmとした以外は実施例1と同一の操作を行った。結果を図2に示す。図2から明らかのように、注入後1時間以内ではセンチネルリンパ節は造影されなかった。図2の右上の蛍光は精巣上体の自家蛍光による発光現象である。なお、皮下注射から60分経過後に再度レーザ

一光照射一撮像の操作を行ったが、センチネルリンパ節は造影されなかった。

【0048】

図1及び図2から明らかなように、40nmの粒径の蛍光粒子を用いた場合には、センチネルリンパ節を30分以内に同定することができたが、200nmの粒径の蛍光粒子を用いた場合には、1時間以内にセンチネルリンパ節の同定はできなかった。

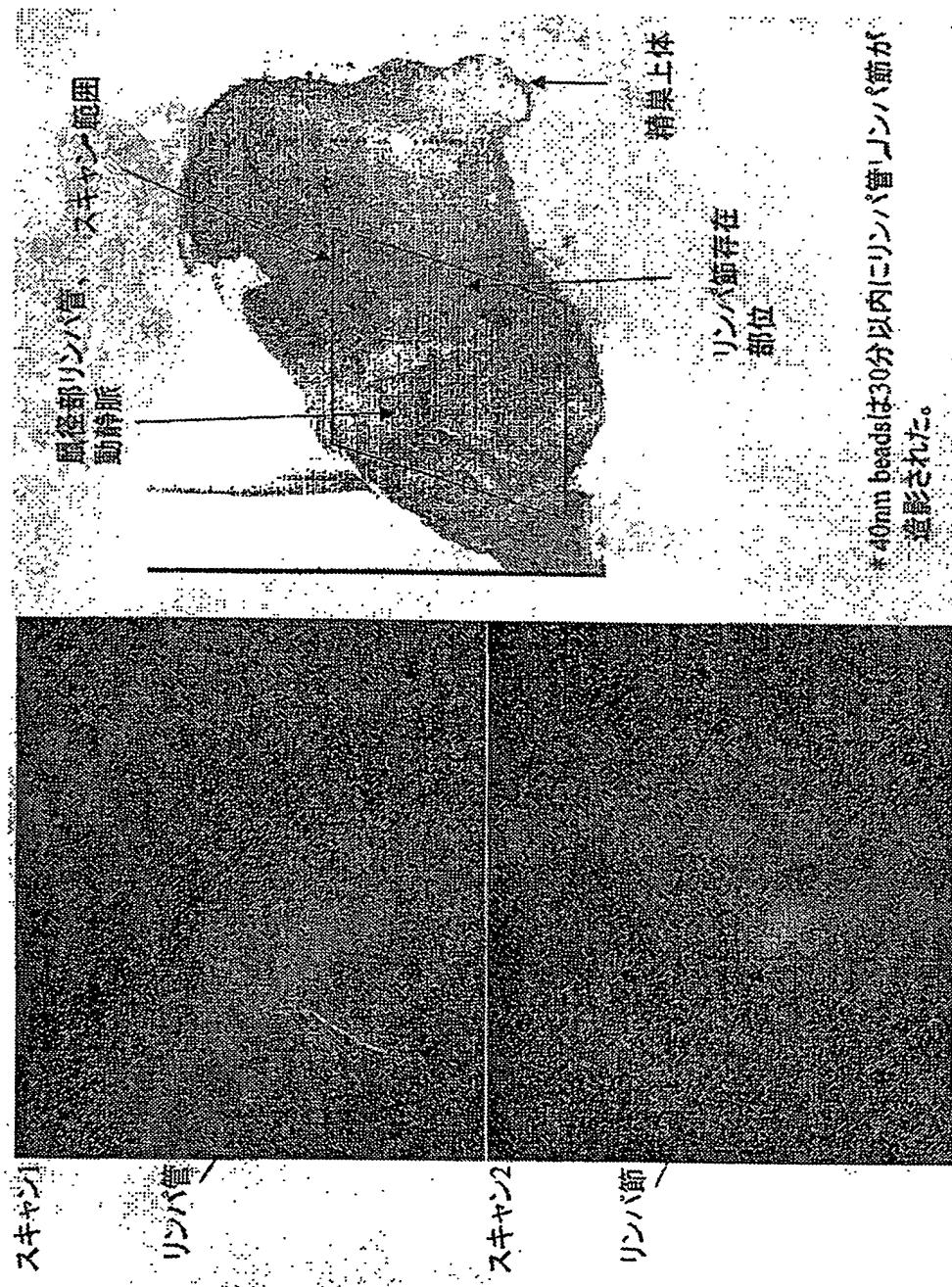
【図面の簡単な説明】

【図1】 実施例1で得られたCCDカメラ画像

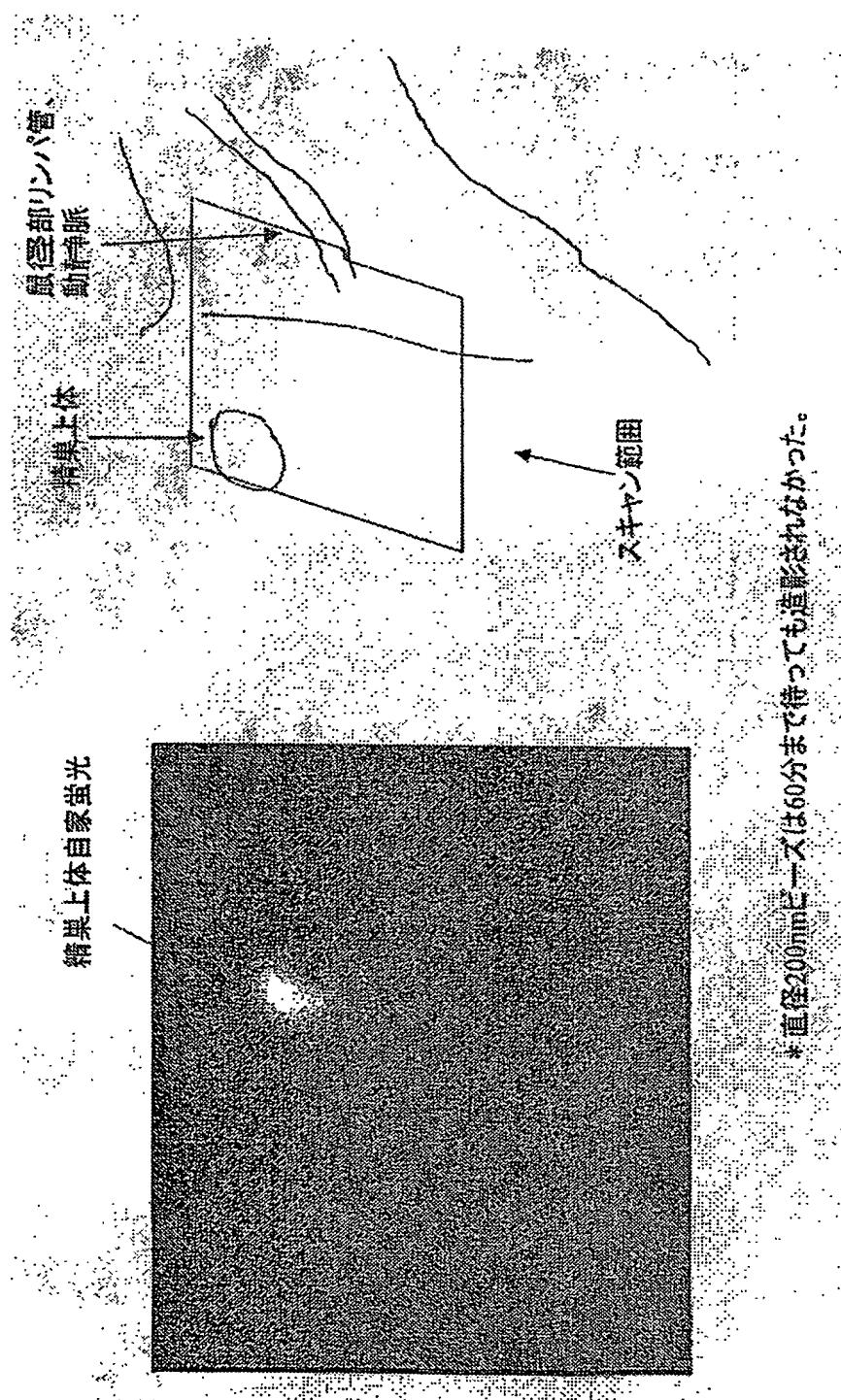
【図2】 比較例1で得られたCCDカメラ画像

【書類名】 図面

【図 1】



【図2】



* 直径200mmピースは60分まで待っても造影されなかった。

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 容易且つ迅速にセンチネルリンパ節を検出可能な手法を提供すること

【解決手段】 所定の粒径を有する蛍光粒子を用いてセンチネルリンパ節生検を行う。

【選択図】 図 1

特願 2003-063753

出願人履歴情報

識別番号 [503009498]

1. 変更年月日 2002年12月26日

[変更理由] 新規登録

住所 宮城県仙台市青葉区柏木二丁目3-17-302
氏名 大内 憲明

特願 2003-063753

出願人履歴情報

識別番号

[503008963]

1. 変更年月日

2002年12月26日

[変更理由]

新規登録

住 所

宮城県仙台市青葉区南吉成二丁目 19-24

氏 名

川添 良幸

特願 2003-063753

出願人履歴情報

識別番号 [596106179]

1. 変更年月日 1996年 7月19日

[変更理由] 新規登録

住所 宮城県仙台市泉区加茂1丁目13番5号
氏名 粕谷 厚生

特願 2003-063753

出願人履歴情報

識別番号 [503009410]

1. 変更年月日 2002年12月26日

[変更理由] 新規登録

住所 宮城県仙台市青葉区南吉成五丁目9-15
氏名 佐竹 正延

特願 2003-063753

出願人履歴情報

識別番号

[000110077]

1. 変更年月日

[変更理由]

住 所

氏 名

1996年10月14日

住所変更

東京都千代田区丸の内一丁目1番3号

東レ・ダウコーニング・シリコーン株式会社

特願 2003-063753

出願人履歴情報

識別番号 [503092490]

1. 変更年月日 2003年 3月10日

[変更理由] 新規登録

住所 宮城県仙台市泉区桂三丁目15-2
氏名 武田 元博

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.